

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Logam berat merupakan unsur kimia yang memiliki nomor atom antara 22 sampai dengan 95. Beberapa jenis logam berat, antara lain Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn dan Ti. Beberapa di antaranya dimanfaatkan oleh manusia untuk keperluan di bidang industri, bidang kedokteran maupun bidang pertanian. Namun di sisi lain, logam berat memiliki efek negatif terhadap makhluk hidup jika terkontaminasi langsung dalam jumlah berlebih pada makanan, minuman, maupun udara. Logam berat memiliki efek toksik yang beragam, di antaranya ada logam berat yang sangat bersifat toksik dan ada logam berat yang bersifat kurang toksik. Apabila makhluk hidup terkontaminasi logam berat dan masuk ke dalam organel sel, maka dapat mempengaruhi kinerja organel sel tersebut. Sebagai contoh logam berat dapat menghambat kinerja enzim yang terdapat di dalam organel sel. Logam berat menghambat kerja enzim dengan cara berinteraksi dengan gugus –SH enzim (Wirahadikusumah, 1977)

Enzim merupakan biokatalis (Cabeza, *et al*, 2011), yaitu katalis untuk reaksi-reaksi dalam sistem biologi. Keaktifan enzim dapat ditentukan secara kualitatif dan kuantitatif, yaitu melalui reaksi kimia antara substrat dengan enzim. Enzim bekerja dengan mempercepat reaksi tetapi tidak mengubah kesetimbangan reaksi kimia (Cipolati, *et al*, 2014). Aktivitas enzim dapat dipengaruhi dengan adanya senyawa tambahan berupa aktivator yang dapat mengaktifkan enzim atau inhibitor yang

dapat menurunkan aktivitas enzim. Inhibitor adalah suatu zat yang cenderung menurunkan laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim (Togu, 2011).

Faktor lainnya yang mempengaruhi aktivitas enzim dalam mengatalisis reaksi di antaranya adalah suhu, pH, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat (Wuryanti, 2004). Enzim memiliki kondisi optimum, yaitu kondisi dimana enzim tersebut bekerja secara optimum.

Hampir semua enzim dapat dihambat oleh senyawa kimia tertentu. Berdasarkan penelitian mengenai senyawa penghambat enzim telah diperoleh informasi yang berguna mengenai spesifisitas substrat enzim, sifat-sifat alamiah gugus fungsional pada sisi aktif, dan mekanisme aktivitas katalitik. Senyawa penghambat enzim berguna dalam menjelaskan lintas metabolik di dalam sel. Lebih lanjut, beberapa obat yang bermanfaat di dunia kedokteran tampaknya berfungsi, karena senyawa ini dapat menghambat enzim-enzim tertentu yang dapat mengganggu kerja organel sel sel (Lehninger, 1982).

Berdasarkan mekanisme reaksi, inhibitor dibagi menjadi 2 jenis utama, yaitu inhibitor yang bekerja secara tidak dapat balik (*irreversible*) dan dapat balik (*reversible*). Inhibitor *irreversible* adalah penghambat yang dapat merusak suatu gugus fungsi pada molekul enzim dengan cara mengikat residu asam amino atau dengan merusak gugus fungsional pada molekul enzim yang penting bagi aktivitas katalitiknya. Inhibitor *reversible* adalah inhibitor yang reaksi kimianya berjalan dua arah atau dapat balik dan bersifat tidak stabil, ketika inhibitor mengikat sisi aktif enzim, maka inhibitor ini dapat dipisahkan lagi dari ikatannya. Inhibitor *reversible* terbagi menjadi dua, yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor non kompetitif.

Enzim proteolitik atau protease atau proteinase merupakan salah satu jenis enzim yang berfungsi memecah protein menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Beberapa enzim yang termasuk enzim proteolitik di antaranya enzim tripsin diproduksi oleh pankreas tubuh manusia, enzim bromelin terkandung dalam tanaman nanas, enzim *ficin* terkandung dalam tanaman cemara, enzim *penguinain* terkandung dalam tanaman *bromelia penguin*, enzim *asclapain* terkandung dalam tanaman *asclepia*, dan enzim papain dihasilkan dari getah tanaman pepaya dan buah pepaya yang masih muda.

Enzim tripsin dihasilkan oleh pankreas dan disekresikan ke dalam usus dua belas jari, tempat dimana enzim tripsin menghidrolisis protein menjadi peptida selama pencernaan makanan berlangsung. Namun demikian, enzim tripsin kini dapat diperoleh secara komersial dari hasil isolasi. Enzim tripsin memiliki spesifikasi kerja, yaitu hanya dapat memotong rantai polipeptida pada sisi karboksil dari residu asam amino lisin atau arginin dari protein (Wulansari D, dkk, 2012).

Enzim tripsin memiliki residu serin yang spesifik pada sisi aktifnya, sehingga enzim tripsin termasuk dalam golongan enzim proteolitik atau protease serin (Eddy, dkk, 2016). Gugus aktif hidroksil serin yang terdapat pada sisi aktif enzim tripsin dapat dihambat secara *irreversible* maupun secara *reversible* bergantung pada jenis inhibitor yang menghambatnya. Sebagai contoh beberapa ion logam berat yang dapat menurunkan kinerja enzim tripsin, seperti kation  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ , dan  $\text{Zn}^{2+}$  dengan substrat BAEE (Green, 1953: 379)

Pada penelitian ini menggunakan ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  dalam bentuk senyawa  $\text{CuCl}_2$  yang akan ditambahkan pada enzim tripsin. Penambahan ion logam  $\text{Cu}^{2+}$

sebagai inhibitor enzim tripsin digunakan untuk menentukan nilai parameter kinetika reaksi  $V_{maks}$  (kecepatan maksimum) dan  $K_m$  (konstanta Michaelis-Menten) menggunakan substrat kasein, sehingga dapat diketahui jenis inhibitornya.

## **B. Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, pokok permasalahan yang dapat diidentifikasi dalam penelitian ini adalah:

1. Ada beberapa ion logam berat yang dapat menghambat aktivitas kerja enzim, antara lain  $Cu^{2+}$ ,  $Ag^+$ , dan  $Pb^{2+}$  yang dapat berinteraksi dengan enzim.
2. Ada berbagai enzim proteolitik yang ada dalam perdagangan, antara lain enzim pepsin dan enzim tripsin.
3. Enzim tripsin memiliki aktivitas optimum pada kondisi optimum, yaitu pada suhu, pH, dan waktu inkubasi optimum.
4. Aktivitas enzim tripsin dapat dipengaruhi senyawa kimia tambahan, yaitu sebagai aktivator atau inhibitor.
5. Jenis inhibitor memberikan informasi yang berguna mengenai spesifisitas substrat enzim, sifat-sifat alamiah gugus fungsional pada sisi aktif, dan mekanisme aktivitas katalitik.
6. Ada berbagai jenis substrat protein komersial yang dapat digunakan dalam penelitian, yaitu kasein dan Bovine Serum Albumin.
7. Metode penentuan kadar protein antara lain metode Biuret, Kjeldahl, dan Lowry.
8. Ada berbagai metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim tripsin, antara lain metode Anson dan metode Kunitz.

### C. Pembatasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah, maka perlu diberikan pembatasan masalah, yaitu:

1. Ion logam yang digunakan dalam penelitian ini adalah ion logam  $\text{Cu}^{2+}$
2. Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim tripsin komersial merk dagang E-Merck.
3. Kondisi optimum tripsin pada pH 8,0; waktu inkubasi 20 menit; suhu inkubasi  $37^\circ \text{C}$ ; dan konsentrasi substrat optimum 10 mg/mL.
4. Senyawa kimia tambahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  dalam bentuk senyawa  $\text{CuCl}_2$
5. Penentuan jenis inhibitor *irreversible*, *reversible* kompetitif atau non kompetitif menggunakan persamaan Michaelis-Menten dan persamaan *Lineweaver-Burk*
6. Jenis substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein kasein.
7. Penentuan kadar protein terlarut dilakukan dengan metode Lowry
8. Penentuan aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan metode Anson

### D. Rumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah nilai parameter kinetika reaksi enzim tripsin dengan inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$ ?
2. Termasuk jenis inhibisi apa inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kinetika enzim tripsin?

### **E. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. menentukan nilai parameter kinetika reaksi enzim tripsin dengan inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$ .
2. mengetahui jenis inhibisi dari inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kinetika enzim tripsin.

### **F. Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Bagi peneliti lainnya, memberikan informasi tentang nilai parameter kinetika reaksi enzim tripsin dengan inhibisi ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  berdasarkan persamaan Michaelis-Menten dan *Lineweaver-Burk*.
2. Bagi masyarakat, memberikan informasi tentang jenis inhibisi ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kinetika enzim tripsin, yaitu *reversible* non kompetitif, sehingga dapat menjadi pertimbangan ketika berhadapan dengan bahan yang mengandung ion logam tersebut.